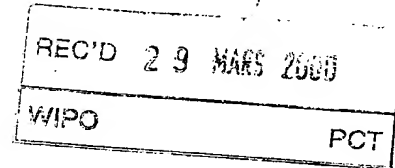


DE 00 / 367



## Bescheinigung

Die Herren Manfred H u ß in Freising/Deutschland und Thomas S p i e g e l in München/Deutschland haben eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Herstellung eines aggregierten Molkenprotein-  
produkts und dessen Anwendung"

am 16. Februar 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole A 23 J , A 23 C und A 23 G der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 22. März 2000

**Deutsches Patent- und Markenamt**

**Der Präsident**

Im Auftrag

Dzierzon

Aktenzeichen: 199 06 379.6

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

16.02.99



Belegexemplar 15. Februar 1999  
Darf nicht geändert werden HU9801P

## **Herstellung eines aggregierten Molkenproteinprodukts und dessen Anwendung**

5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Konzentrats denaturierter Molkenproteinaggregate, bevorzugt mit einer mittleren Aggregatgröße (Medianwert) im Bereich von 1 bis 4  $\mu\text{m}$ , und ein mit diesem Verfahren erhältliches stabiles Schaumprodukt.

10 Proteine in Lebensmitteln existieren häufig nicht als lösliche Einzelmoleküle, sondern in Form von größeren Aggregaten oder Partikeln. Solche partikulären Strukturen können von Natur aus bestehen, wie bei den Kaseinmizellen in der Milch, oder erst während des Herstellungsprozesses gebildet werden, etwa bei der Produktion von Ricotta durch Koagulation der Molkenproteine [KALAB, M. (1990) "Microparticulate protein in foods", Journal of the  
15 American College of Nutrition, 9, 374-387]. Das durch derartige Aggregate oder Partikel hervorgerufene Mundgefühl wird wesentlich von deren Größe geprägt. Teilchen, die kleiner als 0,1  $\mu\text{m}$  sind, werden nicht wahrgenommen, so daß ein wässrig-leerer Eindruck entsteht [LÜTH, A. (1991): Fettreduktion mit Hilfe mikropartikulierter Proteine - ein neues Konzept zur Entwicklung von "Light-Produkten". DMZ-Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft, 112, 762-766].

20 Proteinaggregate, die im Größenbereich von emulgierten Fetttröpfchen, also etwa zwischen 0,1 und 10  $\mu\text{m}$ , liegen, können ein cremig-glattes Mundgefühl hervorrufen [MILLER, M.S. (1994) "Proteins as fat substitutes" In:  
25 Protein Functionality in Food Systems (Hrsgg. HETTIARACHCHY, N.S.; ZIEGLER, G.R.), New York, Basel, Hongkong].

Größere Teilchen werden im Mund einzeln wahrgenommen und als mehlig bis sandig empfunden. Es ist allerdings nicht möglich, eine genaue Grenze der Partikelgröße zu definieren, bei der eine Rauigkeit auftritt, da dabei auch subjektive Faktoren eine Rolle spielen. Die Angaben reichen von 3 bis 40 µm. Andere Eigenschaften der Partikel, wie Form, Deformierbarkeit und Oberflächenstruktur, spielen ebenso eine Rolle wie die Beschaffenheit des Umgebungsmilieus, insbesondere dessen Viskosität (MILLER, a.a.O.).

Aus FR-A 1 453 815 ist ein Verfahren zur Wiedergewinnung der im Lactoserum nach Durchführung der Milchgerinnung (Koagulation) in der Molke verbleibenden Proteine bekannt, bei dem die Molke zunächst auf einen pH-Wert zwischen 4,6 und 7,0, im Beispielsfalle auf einen pH-Wert von 4,65, eingestellt wird und anschließend auf eine Temperatur zwischen 70°C und 100°C, im Beispielsfalle 90°C, erwärmt wird, um die Proteine auszufällen. Danach werden die ausgefällten Proteine mittels einer Zentrifugation abgetrennt. Über die Größe der dabei erhaltenen Proteinaggregate werden in dieser Druckschrift allgemein keine Angaben gemacht. Bei dem in dem Beispielsfalle verwendeten pH-Wert von 4,65, ist der Anteil der Proteinaggregate in der gewünschten Größenordnung zur Erzielung eines cremig-glatten Mundgefühls jedoch gering und die Ausbeute des Verfahrens in dieser Hinsicht deshalb schlecht.

VISSEr und BAKKER (EP-A 0 347 237) beschreiben ein Verfahren, bei dem Molkenproteine in geringen Ausgangskonzentrationen bei Temperaturen unterhalb von 100°C, insbesondere zwischen 65°C und 75°C, erhitzt werden. Innerhalb dieses Temperaturbereichs wird die Dauer des Erhitzens so eingestellt, daß nicht mehr als 10% der Proteine denaturiert, d.h. bei einem pH-Wert von 4,6 unlöslich werden. Anschließend erfolgt eine Konzentrierung der denaturierten Proteine, so daß eine Dispersion nicht-aggregierter, makrokolloidaler Partikel mit Durchmessern von 0,1 bis 10 µm entsteht.

Unter ähnlichen Erhitzungsbedingungen (60°C bis 80°C) kann nach HAKAART et al. (EP-A 0 412 590) aus Molke mit einem Proteingehalt von weniger als 8% oder einer mit  $\alpha$ -Lactalbumin angereicherten Fraktion bei gleichzeitiger Anwendung von geringen Schereinwirkungen eine Nahrungsmittelzusammensetzung mit erhöhtem Gehalt an  $\alpha$ -Lactalbumin hergestellt werden. Die nicht-aggregierten mikrokolloidalen Teilchen, die bei diesem Verfahren erhalten werden, weisen eine mittlere Teilchengröße im Bereich von 0,1 bis 10  $\mu$ m auf.

WO-A 92/20239 [ASHER et al.] beschreibt ein Verfahren zur Herstellung eines Fettersatzstoffs für die Verwendung bei der Eiskremherstellung, bei dem durch Ultrafiltration von Molke ein Molkenkonzentrat (WPC) und durch sich anschließende kurzzeitige Erhitzung des erhaltenen Molkenkonzentrates auf zwischen 75°C und 85°C die Molkenproteine partiell denaturiert werden. Diese Behandlung führt zu einem Produkt koagulierter Teilchen nicht näher definierte Größe. Werden die Bedingungen der Denaturierung verschärft, um einen höheren Grad an Denaturierung zu erzielen, so erhält man bei diesem bekannten Verfahren ein Produkt mit größeren, leicht unterscheidbaren Teilchen, die es für die Verwendung bei der Eiskremherstellung völlig ungeeignet machen.

Eine nachträgliche mechanische Behandlung von hitzedenaturierten Molkenproteinen, insbesondere eine hohe Scherung, kann ebenfalls zu Aggregatgrößen im Mikrometerbereich führen: In einem von PAQUIN et al. [PAQUIN, P.; LEBEUF, Y.; RICHARD, J.P.; KALAB, M. "Microparticulation of milk proteins by high pressure homogenization to produce a fat substitute" in: IDF Special Issue 9303: Protein & Fat Globule Modifications, 389-396 (1993)] entwickelten Verfahren wird ultra- und diafiltrierte Molke zunächst im neutralen oder sauren pH-Bereich bei 95°C für 5 min erhitzt. Dadurch erfolgt eine etwa 90 %ige Denaturierung und Aggregation der Molkenproteine. Das erhitzte Konzentrat wird anschließend in einem speziellen Hochdruckhomogenisator, einem sogenannten Mikrofluidizer, bei einem Druck von 750 bar

homogenisiert. Die grob aggregierte Struktur wird durch diese Behandlung in kleine, kugelförmige Partikel von etwa 1 bis 10 µm Durchmesser zerschlagen.

Vergleichbare Partikelgrößen wurden von SPIEGEL, T., KESSLER, H.G. [5] ["Continuous formation of gel structures and stable foams based on a heat treated and acidulated whey protein concentrate" in Texture of Fermented Milk Products and Dairy Desserts, Proceedings of the IDF Symposium in Vicenza, 106-114, (1998)] gefunden, wenn ein Molkenkonzentrat mit 10 % Protein und 13 % Laktose bei 80°C erhitzt und während der anschließenden Kühlung in einem Schabewärmetauscher einer intensiven Scherbehandlung unterzogen wurde.

Diesen bekannten Verfahren ist gemeinsam, daß die Ausbeute an Proteinaggregaten in der gewünschten Größe von etwa 0,1 bis 10 µm gering ist. Außerdem sind diese Verfahren größtenteils kompliziert und aufwendig und deshalb für die industrielle Anwendung uninteressant.

Aufgabe der Erfindung ist es daher, ein Verfahren zur Herstellung von denaturierten Molkenproteinaggregaten, bevorzugt mit einer Größe von im wesentlichen 0,1 µm bis 10 µm [mittlere Aggregatgröße (Medianwert) im Bereich von 1 bis 4 µm] bereitzustellen, das einfach durchzuführen ist und die gewünschten Proteinaggregate zuverlässig und in hoher Ausbeute bereitzustellen vermag.

Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren zur Herstellung eines Konzentrats denaturierter Molkenproteinaggregate, bevorzugt mit einer mittleren Aggregatgröße (Medianwert) im Bereich von 1 bis 4 µm gelöst, welches die Schritte umfasst, daß

a) eine auf einen Proteingehalt von maximal 4 Gew.-% angereicherte wäßrige Lösung mit Molkenproteinen mit einem pH im Bereich von 5,0 bis 7,0 unter im wesentlichen nicht-scherenden Bedingungen bei einer Tempe-

ratur im Bereich von 75 bis 150°C mittels Heißhaltung zu  $\geq 80\%$ , bezogen auf die Proteine, hitzedenaturiert wird und daß

b) anschließend ein Konzentrierungsschritt durchgeführt wird, bevorzugt auf eine Konzentration der denaturierten Molkenproteine zwischen 5 und 20%.

Der vorstehend gebrauchte Ausdruck, daß die mittlere Aggregatgröße (Medianwert) zwischen 1 und 4  $\mu\text{m}$  liegt, bedeutet, daß im wesentlichen die Aggregatgröße zwischen 0,1 und 10  $\mu\text{m}$  liegen soll; hierbei ist der Medianwert so definiert, daß bei einer gegebenen Größenverteilung 50 Vol.-% der Teilchen unterhalb dieses Wertes liegen und 50 Vol.-% oberhalb davon.

Dieser Medianwert wird in Fachkreisen auch mit  $D_{50,3}$  abgekürzt. Wenn dann die Aggregatgröße "im wesentlichen" zwischen 0,1 und 10  $\mu\text{m}$  liegen soll, so ist dies so zu verstehen, daß mehr als 90 Vol.-%, bevorzugt mehr als 95 Vol.-% der Aggregate in dem genannten Größenbereich zwischen 0,1 und 10  $\mu\text{m}$  liegen.

Das erfindungsgemäße Herstellungsverfahren erfordert keine oder nur geringe Schereinwirkungen, so daß keine aufwendigen Apparaturen notwendig sind.

Wesentliches Merkmal des erfindungsgemäßen Verfahrens ist, daß mit dem Ausgangsrohstoff in dem erfindungsgemäß eingesetzten Temperaturintervall von 75 bis 150°C mittels Heißhaltung bei einem pH im Bereich von 5,0 bis 7,0 unter im wesentlichen nicht-scherenden Bedingungen eine kontrollierte Denaturierung durchgeführt wird.

Insbesondere liegt der erfindungsgemäß bei der Verfahrensführung einzustellende Denaturierungsgrad bei  $\geq 90\%$ , bevorzugt  $\geq 95\%$ . Die gezielte Steuerung des erfindungsgemäßen Verfahrens durch die Einstellung des Denaturierungsgrades stellt den wesentlichen Unterschied zwischen dem erfindungsgemäßen Verfahren und den dem Fachmann bekannten Verfahren

dar. Dadurch wird gewährleistet, daß die Ausbeute an denaturierten Molkenproteinaggregaten außerordentlich hoch ist, so daß annähernd das gesamte enthaltene Protein zur Erzielung der gewünschten Eigenschaften beitragen kann.

- 5 Wird die Hitzedenaturierung nicht kontrolliert durchgeführt, so bewirken bereits kleinste Schwankungen in der Zusammensetzung der Ausgangsmaterialien, wie etwa unterschiedliche Gehalte an den in der Ausgangslösung, etwa Milch oder Molke, enthaltenen Proteinfractionen, im pH-Wert der Ausgangslösung und ähnlichem, daß der gewünschte Gehalt an denaturierten (Molken-)Proteinaggregaten nicht erzielt wird. Infolgedessen weist dann das erhaltene Produkt auch nicht die gewünschten Eigenschaften auf und kann nicht zu dem vorgesehenen Zweck eingesetzt werden.

- 15 Der Anteil der denaturierten Proteine wird bei dem erfindungsgemäßen Verfahren mittels des bei den Beispielen beschriebenen Verfahrens erfaßt; es handelt sich dabei um einen Routinetest, wie er in vielen Labors im Zusammenhang mit anderen Untersuchungen durchgeführt wird. Details der Messung des Denaturierungsgrades sind also in den nachfolgenden Beispielen näher beschrieben.

20 Der so gemessene Denaturierungsgrad stellt einen einfach zu messenden Parameter dar, der es dem Fachmann ermöglicht, mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens die gestellte Aufgabe zu lösen.

- 25 Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren kann als Ausgangsstoff eine beliebige wäßrige Lösung von Molkenproteinen eingesetzt werden, beispielsweise Molke, Molke aus der Kaseinherstellung. Bevorzugt wird jedoch als Rohstoff ein Milch-Mikrofiltrationspermeat oder direkt eine nicht-angereicherte Molke, insbesondere Süßmolke verwendet. Der Proteingehalt der eingesetzten Lösung übersteigt erfindungsgemäß nicht 4 Gew.-%, bevorzugt nicht 3 Gew.-%. Es ist erfindungsgemäß also nicht erforderlich, vor der Durchführung des erfindungsgemäßen Denaturierungsverfahrens ein Pro-

M

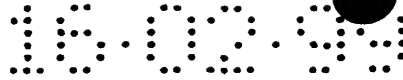
teinkonzentrat, beispielsweise ein WPC (whey protein concentrate) herzustellen. Der erfindungsgemäß bevorzugte Rohstoff ist — wie bereits angedeutet — nicht-konzentrierte Molke, bevorzugt Süßmolke, die einen Anteil an denaturierbaren Molkenproteinen im Konzentrationsbereich zwischen 0,5 und etwa 1 Gew.-% enthält. In Ausnahmefällen kann der Gehalt einer derartigen Molke bis zu 1,2 Gew.-% betragen. Der Laktosegehalt einer derartigen Molke liegt zwischen 4 bis 6 Gew.-%.

Erfindungsgemäß beträgt der pH-Wert des Ausgangsmaterials 5 bis 7, bevorzugt zwischen 5,5 und 6,5. Am allerbevorzugtesten ist ein Bereich von etwa 6, insbesondere 6,0 bis 6,5. Dies bietet den Vorteil, daß Molke aus der Käseherstellung in unveränderter Form verwendet werden kann. Dabei kann jedoch auch Molke als Rohstoff dienen, deren Proteingehalt durch molkereiübliche Konzentrierungsverfahren auf maximal 4 Gew.-%, insbesondere maximal 3 Gew.-% erhöht ist.

Die bei einer bestimmten Temperatur im zuvor genannten Bereich anzuwendende Heißhaltezeit zur Erzielung einer Molkenproteindenaturierung über 80 %, bevorzugt über 95 %, liegt zwischen 18 Stunden und 10 Sekunden. Allgemein gültige Zeitgrenzen lassen sich nur schwer festlegen, da diese je nach Zusammensetzung des Ausgangsmaterials stark voneinander differieren können (vgl. DANNENBERG und KESSLER ["Reaction Kinetics of the Denaturation of Whey Proteins in Milk", J. Food Sci. 53(1), 258 - 263 (1988)], wo die Ergebnisse spezieller Untersuchungen an einzelnen Molkenproteinfraktionen wiedergegeben sind). Die bei der Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens erforderliche Heißhaltezeit ergibt sich jedoch aus dem einzuhaltenden Denaturierungsgrad.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann mittels molkereiüblicher Vorrichtungen wie Platten- oder Röhrenwärmetauschern bzw. Behältern durchgeführt werden. Bei diesen Verfahren treten üblicherweise Scherkräfte durch Pump- und Rührvorgänge auf. Erfindungsgemäß und im Unterschied zu den dem Fachmann bekannten Verfahren werden jedoch keine weiteren Sche-





12

rungsvorgänge durchgeführt. Insofern wird das erfindungsgemäße Verfahren unter im wesentlichen nicht-scherenden Bedingungen durchgeführt. Die durch die erwähnten, nicht zu vermeidenden Pump- und Rührvorgänge auftretenden Scherraten liegen im allgemeinen nicht oberhalb von  $2000 \text{ s}^{-1}$  bis 5  $1000 \text{ s}^{-1}$ , bevorzugt nicht oberhalb  $500 \text{ s}^{-1}$ . Die Heißhaltung des Rohstoffs kann auch in vollständiger Ruhe erfolgen.

Erfindungsgemäß erfolgt die Hitzedenaturierung des Ausgangsmaterials, d.h. insbesondere der nicht-angereicherten Molke, in einem Temperaturbereich zwischen  $75^{\circ}\text{C}$  und  $150^{\circ}\text{C}$ . Besonders bevorzugt sind jedoch die Temperaturbereiche zwischen  $110^{\circ}\text{C}$  und  $150^{\circ}\text{C}$  und zwischen  $75^{\circ}\text{C}$  und  $95^{\circ}\text{C}$ , insbesondere  $75^{\circ}\text{C}$  und  $85^{\circ}\text{C}$ . Nach der erfindungsgemäßen Hitzebehandlung ist das Produkt trüb, aber weiterhin flüssig.

Die Molkenproteine liegen überwiegend als Aggregate vor. Die Messung mittels eines Laserbeugungsspektrometers (Coulter LS 130) ergibt in 15 dem erfindungsgemäßen Größenbereich von  $0,1 \mu\text{m}$  bis  $10 \mu\text{m}$  einen Volumenanteil von  $>90\%$  der Aggregate und im bevorzugten Größenbereich von  $0,5$  bis  $4 \mu\text{m}$  einen Volumenanteil von  $>70\%$  (vgl. Fig. 2).

Der Erhitzung folgt erfindungsgemäß eine Konzentrierung mit molke-reiüblichen Verfahren, vorzugsweise durch Ultrafiltration oder Mikrofiltration, 20 auf einen Proteingehalt von  $5\%$  bis  $20\%$ . Nach der Konzentrierung ist das Produkt viskos und weist eine cremig-glatte Konsistenz auf. Die Aggregatdurchmesser werden durch diesen Schritt nicht wesentlich verändert. Besonderer Vorteil der nahezu vollständigen Denaturierung und Aggregation der Molkenproteine vor dem anschließenden Konzentrierungsschritt ist es, 25 daß keine Abtrennung von nicht-denaturierten Anteilen zur Ausbeutesteigerung notwendig ist.

Das so hergestellte Produkt kann direkt verwendet werden, alternativ kann es aber auch getrocknet werden, vorzugsweise durch Gefrier- oder Sprühtrocknung.

Das erfindungsgemäß hergestellte Produkt kann der Käseireimilch zur Herstellung von Weich-, Schnitt- und Hartkäse zugesetzt werden, um den Molkenproteingehalt in diesen Käsen und die Ausbeute zu erhöhen. In der denaturierten und aggregierten Form verbleiben die Molkenproteine in der Käsemasse und gehen im Gegensatz zu nativen Molkenproteinen nicht in die Molke verloren, wie bei der klassischen Käseherstellung üblich.

Ebenso ist ein Einsatz in Schmelzkäse, in gefrorenen und nichtgefrorenen Desserts, in Frischkäse oder in Aufstrichen möglich. Bei allen diesen Produkten kann durch Zusatz des erfindungsgemäß hergestellten Molkenproteinproduktes der Fettgehalt wegen der cremigen Eigenschaften reduziert werden. Außerdem kann der Kaseinanteil, der z.B. in Form von Käserohstoff oder Magermilchpulver in diesen Produkten vorliegt, teilweise ersetzt werden, da sich denaturierte, aggregierte Molkenproteine ähnlich wie Kasein verhalten.

In einer weiteren ganz besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird das nach der Durchführung der Konzentrierung erhaltene Produkt unter Einstellung eines pH von 4,0 bis 5,5 unter Einsatz einer Aufschäumvorrichtung aufgeschäumt. Bei der Durchführung dieses Verfahrensschritts ist die Zugabe von Schaumstabilisatoren nicht erforderlich. Wenn überhaupt Schaumstabilisatoren zugesetzt werden, was eventuell zur weiteren Optimierung der Schaumstruktur wünschenswert sein kann, so ist die eingesetzte Menge an Schaumstabilisatoren, gegenüber üblichen Verfahren zur Herstellung geschäumter Produkte wesentlich reduziert. Im Falle von Gelatine beispielsweise sind anstelle der üblicherweise zugesetzten 0,5% bis 1% Gelatine nur noch etwa 0,1% notwendig.

Die Einstellung des pH erfolgt durch die kontrollierte Zugabe einer Säure. Bei der zugesetzten Säure handelt es sich erfindungsgemäß um eine Säure aus der Gruppe der organischen bzw. für Lebensmittel zugelassenen Säuren. Bevorzugt ist ein Gemisch aus Milchsäure und Zitronensäure, im

bevorzugtesten Fall ein Gemisch aus 4 mol/l Zitronensäure und 90%iger Milchsäure zu gleichen Teilen.

5 Nach Durchführung des Aufschäumens erhält man ein geschäumtes, im wesentlichen oder sogar völlig schaumstabilisatorfreies Produkt. Gegenüber üblichen geschäumten Produkten zeichnet sich das erfindungsgemäße Produkt dadurch aus, daß es im geschäumten Zustand — je nach Lagerungsbedingungen — wochen- oder sogar monatelang physikalisch stabil lagerfähig ist. Übliche aus Molkenproteinaggregaten hergestellte Produkte erzielen, wenn überhaupt, eine derartige Lagerfähigkeit nur durch Zusatz von Schaumstabilisatoren.

Die Erfindung in allen ihren Ausführungsformen wird durch die nachfolgend wiedergegebenen Beispiele näher erläutert.

Es zeigen die Fig.:



15 Fig. 1 zeigt die Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten der Denaturierung von  $\beta$ -Lactoglobulin vom pH-Wert, d.h. die Änderung der jeweiligen Denaturierungsgeschwindigkeit.

20 Fig. 2 zeigt beispielhaft die Häufigkeitsverteilung (Volumenanteil vs. Teilchendurchmesser) der mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens hergestellten Molkenproteinaggregate. Der dem Diagramm entnehmbare aufsummierte Anteil (Vol.-%) der Größenklassen ist:

|                               |      |      |      |      |      |
|-------------------------------|------|------|------|------|------|
| aufsummierter Anteil (Vol.-%) | < 10 | < 25 | < 50 | < 75 | < 95 |
| Größe (bis zu ... $\mu$ m)    | 0,32 | 0,59 | 1,1  | 1,8  | 3,8  |

## Herstellungsbeispiele

### Beispiel 1

25 Eine übliche, d.h. nicht aufkonzentrierte Molke mit einem Proteingehalt von 1,0 % und einem pH-Wert von 6,50 wurde in einem Plattenwärmetauscher aufgeheizt und dann in einem Tank bei 80°C 150 Minuten lang

einer Heißhaltung unterzogen. Anschließend wurde der Denaturierungsgrad gemäß folgendem Verfahren gemessen:

Die Bestimmung der Konzentrationsabnahme der nativen Molkenproteine infolge der Erhitzung erfolgte nach der bei BEYER ["Zum Einfluß der Proteinkonzentration auf das Denaturierungsverhalten der Molkenproteine sowie die damit verbundenen rheologischen Veränderungen", Dissertation Fakultät für Brauwesen, Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaft, Technische Universität München, München (1990)] beschriebenen chromatographischen Methode [RP-HPLC: Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie]. Dabei werden die denaturierten Molkenproteine vor der Analyse durch Fällung bei pH 4,6 und anschließende Filtration abgetrennt. Die einzelnen nativen Molkenproteinfraktionen werden aufgrund unterschiedlicher hydrophober Eigenschaften an der stationären Trägersubstanz der HPLC-Säule verschieden stark adsorbiert. Mittels Gradientenelution, d.h. durch kontinuierliche Veränderung der hydrophoben Eigenschaften der mobilen Phase, die die Säule durchspült, erfolgt eine schrittweise Desorption der Proteinfraktionen von der stationären Phase. Dadurch eluieren die Fraktionen zu unterschiedlichen Zeiten und können getrennt mit einem UV-Detektor erfaßt werden. Die Signale werden in eine Chromatogrammdarstellung umgewandelt, in der die Fläche unter den einzelnen Peaks der Proteinkonzentration proportional ist. Der Denaturierungsgrad wird über das Verhältnis der Peakflächen der hitzebehandelten und der nicht erhitzten Probe unter Berücksichtigung der Gesamtverdünnungsfaktors bei der Probenaufbereitung berechnet:

$$DG = 1 - \frac{(F \cdot GVF)_{\text{erhitzt}}}{(F \cdot GVF)_{\text{nicht erhitzt}}}$$

wobei:

DG: Denaturierungsgrad,

F: Peakfläche,

GVF: Gesamtverdünnungsfaktor der Probenaufbereitung sind.

Der in diesem Beispiel derartig ermittelte Denaturierungsgrad betrug für  $\beta$ -Lactoglobulin 95 % und für  $\alpha$ -Lactalbumin > 95 %, Gesamtdenaturierungsgrad 95 %.

### Beispiel 2

- 5     Herstellungsbeispiel 1 wurde mit einer nicht-konzentrierten Molke mit einem Proteingehalt von 0,9 %, pH 6,55 wiederholt, wobei die Erhitzung und die Heißhaltung in einem Röhrenwärmeaustauscher in kontinuierlichem Betrieb im Durchfluß bei 140°C 10 Sekunden lang erfolgte.

Der in diesem Beispiel ermittelte Denaturierungsgrad betrug für  $\beta$ -Lactoglobulin 95 % und für  $\alpha$ -Lactalbumin 80 %, Gesamtdenaturierungsgrad >85%.

### Beispiel 3

- 15     Herstellungsbeispiel 1 wurde mit einer leicht aufkonzentrierten Molke (Proteingehalt 2,0 Gew.-%, pH 5,0) wiederholt, wobei die Erhitzung und die Heißhaltung in einem Druckbehälter bei 110°C 1 Minute lang erfolgte.

Der in diesem Beispiel ermittelte Denaturierungsgrad betrug für  $\beta$ -Lactoglobulin > 95 % und für  $\alpha$ -Lactalbumin > 95 %, Gesamtdenaturierungsgrad >95 %.

### **Anwendungsbeispiele**

#### Anwendungsbeispiel 1: Schmelzkäse/Schmelzkäsezubereitungen

- 25     Ein Schmelzkäse mit hohem Molkenproteinanteil wurde nach folgender Rezeptur hergestellt:

|                                | Anteil        | Proteingehalt |
|--------------------------------|---------------|---------------|
| Hartkäse/Schnittkäse           | 58 %          | 24 %          |
| hergestelltes Molkenkonzentrat | 17,5 %        | 10 %          |
| Schmelzsalz                    | 3 %           |               |
| 5 Butter                       | 9 %           |               |
| Wasser                         | <u>12,5 %</u> |               |
|                                | 100 %         |               |

Der so hergestellte Schmelzkäse zeigte hervorragendes Kremierungsverhalten und eine ebenso gute Streichfähigkeit.

#### Anwendungsbeispiel 2: Milchspeiseeis

Speiseeismix folgender Zusammensetzung wurde nach Pasteurisierung und Homogenisierung gefroren. Die Zugabe des erfindungsgemäß hergestellten Molkenproteinproduktes kann wegen dessen hohen Denaturierungsgrades und der damit verbundenen hohen Hitze- und Scherstabilität vor dem Pasteurisieren und Homogenisieren erfolgen.

|   | Anteil | Proteingehalt |
|---|--------|---------------|
| Magermilchpulver                                  | 5,5 %  | 35 %          |
| erfindungsgemäß hergestelltes Molkenproteinpulver | 5,5 %  | 35 %          |
| Milchfett   | 5 %    |               |
| Glucosesirup                                      | 5 %    |               |
| Saccharose  | 10 %   |               |
| Wasser  | 69 %   |               |

25 Das so hergestellte Speiseeis zeigte eine cremiges Mundgefühl und eine sehr gute Schmelzstabilität, auch ohne Zugabe von Emulgatoren/Stabilisatoren.

18.02.99

- 14 -

HU9601P

18

### Anwendungsbeispiel 3: Schaumspeise

- 5 Eine lagerstabile Schaumspeise wurde durch Aufschäumen des erfindungsgemäß hergestellten Molkenprodukts (10% Protein) und gleichzeitiger Säuerung mittels Milchsäure (90%ig) auf pH 4,5 hergestellt. Der Schaum war ohne jede Zugabe von Stabilisatoren oder milchfremder Zutaten über mehrere Wochen physikalisch stabil. Aus sensorischen Gründen kann auch Zucker und Aroma/Fruchtkonzentrat Bestandteil der Rezeptur sein.

15. Februar 1999  
HU9801P

### Patentansprüche

- 5      1.    Verfahren zur Herstellung eines Konzentrats denaturierter Molkenproteinaggregate, bevorzugt mit einer mittleren Aggregatgröße (Medianwert) im Bereich von 1 bis 4  $\mu\text{m}$ , umfassend die Schritte, daß
- 10      a) eine auf einen Proteingehalt von maximal 4 Gew.-% angereicherte wäßrige Lösung mit Molkenproteinen mit einem pH im Bereich von 5,0 bis 7,0 unter im wesentlichen nicht-scherenden Bedingungen bei einer Temperatur im Bereich von 75 bis 150°C mittels Heißhaltung zu  $\geq 80\%$ , bezogen auf die Proteine, hitzedenaturiert wird und daß
- 15      b) anschließend ein Konzentrierungsschritt durchgeführt wird, bevorzugt auf eine Konzentration der denaturierten Molkenproteine zwischen 5 und 20%.
- 20      2.    Verfahren nach Anspruch 1, wobei die wäßrige Lösung mit Molkenproteinen ausgewählt ist aus einem Milch-Mikrofiltrationspermeat und einer Molke.
3.    Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Proteingehalt der wäßrigen Lösung maximal 3 Gew.-% beträgt.
4.    Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei bei der Durchführung der im wesentlichen nicht-scherenden Bedingungen der Heißhaltung ein Wert für die Scherrate von  $2000 \text{ s}^{-1}$ , bevorzugt  $1000 \text{ s}^{-1}$  nicht überschritten wird.



5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die wäßrige Lösung ein nicht-angereicherte Molke ist.
- 5 6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Heißhaltungsschritt so durchgeführt wird, daß der Denaturierungsgrad  $\geq 90\%$  beträgt.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der pH der wäßrigen Lösung zwischen 5,5 und 6,5, bevorzugt zwischen 6,0 und 6,5 liegt.
- 10 8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Heißhaltezeit zwischen 10 Sekunden und 18 Stunden liegt.
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Temperatur beim Heißhaltungsschritt  $\leq 95^\circ\text{C}$  beträgt.
- 15 10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Temperatur beim Heißhaltungsschritt zwischen  $110^\circ\text{C}$  und  $150^\circ\text{C}$  beträgt.
11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei bei dem Konzentrierungsschritt eine Ultrafiltrationsvorrichtung, ein Separator und/oder ein Dekanter eingesetzt wird.
- 20 12. Verwendung des nach einem der Ansprüche 1 bis 11 hergestellten Konzentrats denaturierter Molkenproteinaggregate als Nahrungszusatzstoff, insbesondere bei der Käse- oder Eiskremherstellung.
- 25 13. Verfahren zur Herstellung eines geschäumten Produkts, enthaltend denaturierte Molkenproteinaggregate, bevorzugt mit einer mittleren Aggregatgröße (Medianwert) im Bereich von 1 bis  $4\text{ }\mu\text{m}$ , wobei
- das Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11 durchgeführt wird,

16.02.79

M

- 3 -

HU9801P

- das so erhaltene Konzentrat unter Einstellung eines pH von 4,0 bis 5,5 ohne Zugabe von Schaumstabilisatoren aufgeschäumt wird.

14. Geschäumtes, im wesentlichen schaumstabilisatorfreies Produkt, erhältlich mittels des Verfahrens nach Anspruch 13.

### Zusammenfassung

5 Es wird ein Verfahren zur Herstellung eines Konzentrats denaturierter Molkenproteinaggregate, bevorzugt mit einer mittleren Aggregatgröße (Medianwert) im Bereich von 1 bis 4  $\mu\text{m}$ , bereitgestellt, welches die Schritte umfaßt, daß

10 a) eine auf einen Proteingehalt von maximal 4 Gew.-% angereicherte wäßrige Lösung mit Molkenproteinen mit einem pH im Bereich von 5,0 bis 7,0 unter im wesentlichen nicht-scherenden Bedingungen bei einer Temperatur im Bereich von 75 bis 150°C mittels Heißhaltung zu  $\geq 80\%$ , bezogen auf die Proteine, hitzedenaturiert wird und daß

15 b) anschließend ein Konzentrierungsschritt durchgeführt wird, bevorzugt auf eine Konzentration der denaturierten Molkenproteine zwischen 5 und 20%.

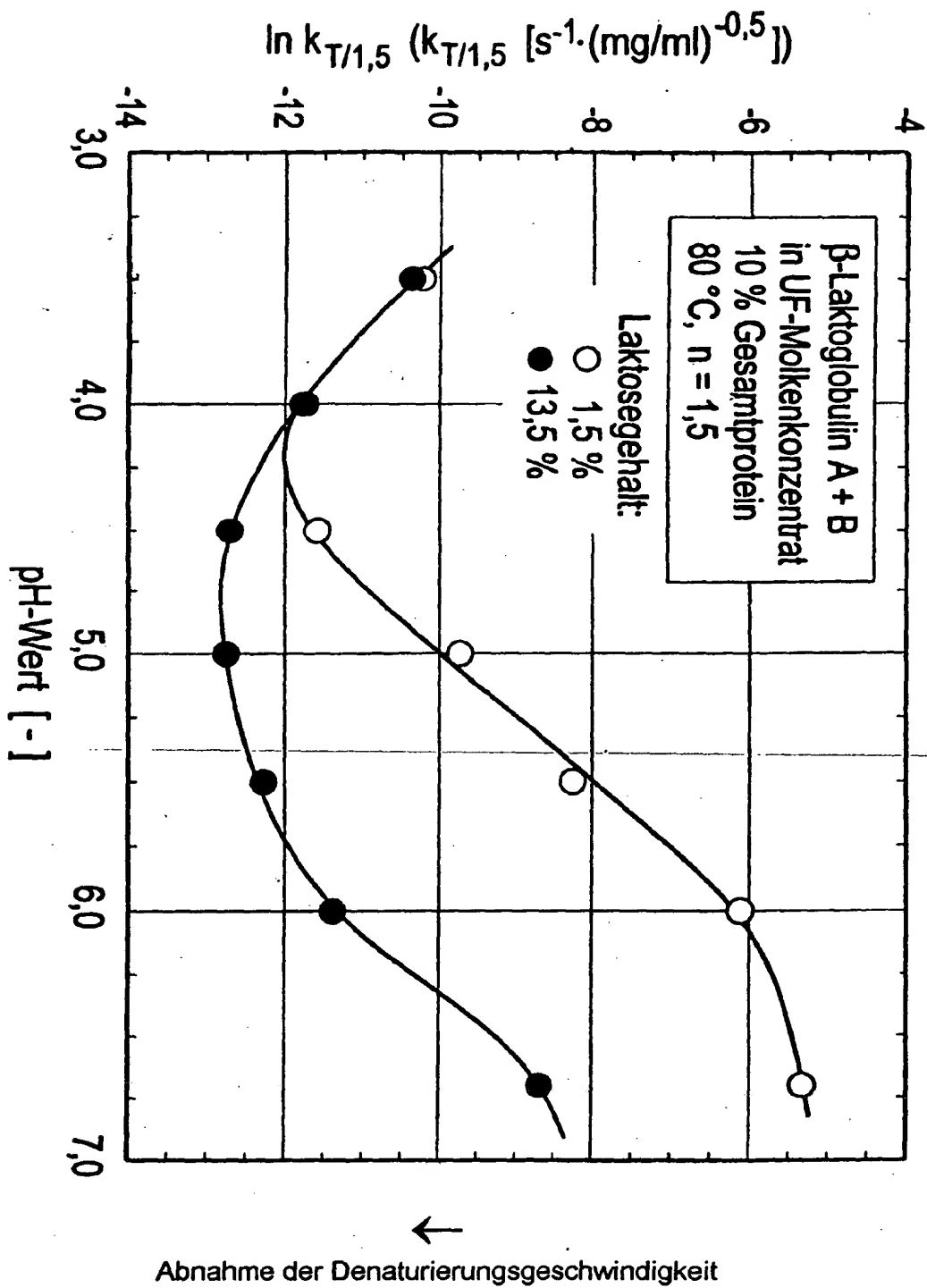


Fig. 1

15.02.99

23

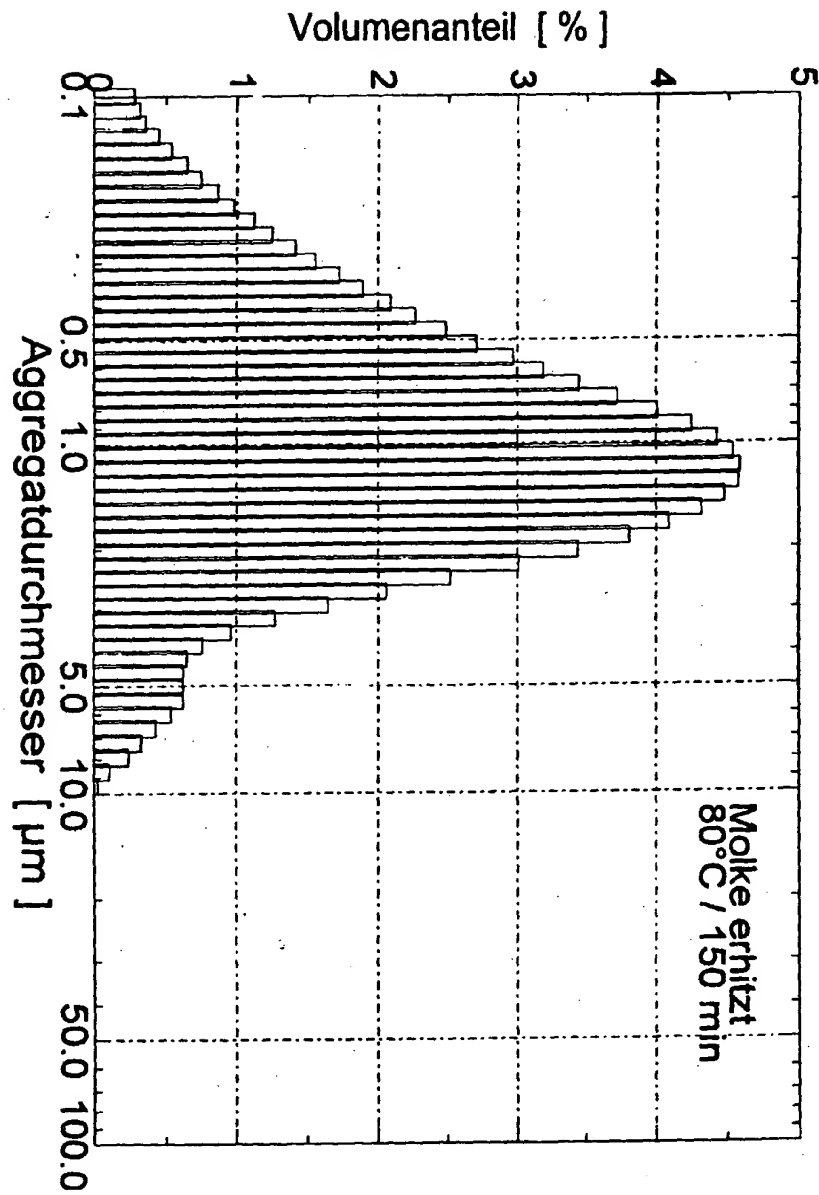


Fig. 2

